

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

Absender: INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE

PCT

An

ROCHE DIAGNOSTICS GMBH
- Patentabteilung
D-68298 Mannheim
GERMANY

K	Roche Diagnostics GmbH Patentabteilung	AB
JG		HIL
SI	11. Dez. 2000	WN
Kn	Er.	BA
P	KÖ KIL S SZ IM	WB

MITTEILUNG ÜBER DIE ÜBERMITTLUNG DES
INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHTS
ODER DER ERKLÄRUNG

Lit. v. s. f. (Regel 44.1 PCT)

Absendedatum
(Tag/Monat/Jahr)

07/12/2000

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts

5208/OA/WO-Koe

WEITERES VORGEHEN

siehe Punkte 1 und 4 unten

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/ 05378

Internationales Anmeldedatum

(Tag/Monat/Jahr)

10/06/2000

Anmelder

ROCHE DIAGNOSTICS GMBH

1. ☒ Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß der internationale Recherchenbericht erstellt wurde und ihm hiermit übermittelt wird.

Einreichung von Änderungen und einer Erklärung nach Artikel 19:

Der Anmelder kann auf eigenen Wunsch die Ansprüche der internationalen Anmeldung ändern (siehe Regel 46):

Bis wann sind Änderungen einzureichen?

Die Frist zur Einreichung solcher Änderungen beträgt üblicherweise zwei Monate ab der Übermittlung des internationalen Recherchenberichts; weitere Einzelheiten sind den Anmerkungen auf dem Beiblatt zu entnehmen.

Wo sind Änderungen einzureichen?

Unmittelbar beim Internationalen Büro der WIPO, 34, CHEMIN des Colombettes, CH-1211 Genf 20,
Telefaxnr.: (41-22) 740.14.35

Nähere Hinweise sind den Anmerkungen auf dem Beiblatt zu entnehmen.

2. ☐ Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß kein internationaler Recherchenbericht erstellt wird und daß ihm hiermit die Erklärung nach Artikel 17(2)a) übermittelt wird.

3. ☐ **Hinsichtlich des Widerspruchs** gegen die Entrichtung einer zusätzlichen Gebühr (zusätzlicher Gebühren) nach Regel 40.2 wird dem Anmelder mitgeteilt, daß

☐ der Widerspruch und die Entscheidung hierüber zusammen mit seinem Antrag auf Übermittlung des Wortlauts sowohl des Widerspruchs als auch der Entscheidung hierüber an die Bestimmungsmäster dem Internationalen Büro übermittelt worden sind.

☐ noch keine Entscheidung über den Widerspruch vorliegt; der Anmelder wird benachrichtigt, sobald eine Entscheidung getroffen wurde.

4. **Weiteres Vorgehen:** Der Anmelder wird auf folgendes aufmerksam gemacht:

Kurz nach Ablauf von **18 Monaten** seit dem Prioritätsdatum wird die internationale Anmeldung vom Internationalen Büro veröffentlicht. Will der Anmelder die Veröffentlichung verhindern oder auf einen späteren Zeitpunkt verschieben, so muß gemäß Regel 90 bis 90^{bis}3 vor Abschluß der technischen Vorbereitungen für die internationale Veröffentlichung eine Erklärung über die Zurücknahme der internationalen Anmeldung oder des Prioritätsanspruchs beim Internationalen Büro eingehen.

Innerhalb von **19 Monaten** seit dem Prioritätsdatum ist ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung einzureichen, wenn der Anmelder den Eintritt in die nationale Phase bis zu 30 Monaten seit dem Prioritätsdatum (in manchen Ämtern sogar noch länger) verschieben möchte.

Innerhalb von **20 Monaten** seit dem Prioritätsdatum muß der Anmelder die für den Eintritt in die nationale Phase vorgeschriebenen Handlungen vor allen Bestimmungsmästern vornehmen, die nicht innerhalb von 19 Monaten seit dem Prioritätsdatum in der Anmeldung oder einer nachträglichen Auswählerklärung ausgewählt wurden oder nicht ausgewählt werden konnten, da für sie Kapitel II des Vertrages nicht verbindlich ist.

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

 Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL-2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Toñi Muñoz-Manneken

T. Muñoz-Manneken

SL *T. 07.02.01 WO/01*

THIS PAGE BLANK (USPTO)

ANMERKUNGEN ZU FORMBLATT PCT/ISA/220

Diese Anmerkungen sollen grundlegende Hinweise zur Einreichung von Änderungen gemäß Artikel 19 geben. Diesen Anmerkungen liegen die Erfordernisse des Vertrags über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens (PCT), der Ausführungsordnung und der Verwaltungsvorschriften zu diesem Vertrag zugrunde. Bei Abweichungen zwischen diesen Anmerkungen und obengenannten Texten sind letztere maßgebend. Nähere Einzelheiten sind dem PCT-Leitfaden für Anmelder, einer Veröffentlichung der WIPO, zu entnehmen.

Die in diesen Anmerkungen verwendeten Begriffe "Artikel", "Regel" und "Abschnitt" beziehen sich jeweils auf die Bestimmungen des PCT-Vertrags, der PCT-Ausführungsordnung bzw. der PCT-Verwaltungsvorschriften.

HINWEISE ZU ÄNDERUNGEN GEMÄSS ARTIKEL 19

Nach Erhalt des internationalen Recherchenberichts hat der Anmelder die Möglichkeit, einmal die Ansprüche der internationalen Anmeldung zu ändern. Es ist jedoch zu betonen, daß, da alle Teile der internationalen Anmeldung (Ansprüche, Beschreibung und Zeichnungen) während des internationalen vorläufigen Prüfungsverfahrens geändert werden können, normalerweise keine Notwendigkeit besteht, Änderungen der Ansprüche nach Artikel 19 einzureichen, außer wenn der Anmelder z.B. zum Zwecke eines vorläufigen Schutzes die Veröffentlichung dieser Ansprüche wünscht oder ein anderer Grund für eine Änderung der Ansprüche vor ihrer internationalen Veröffentlichung vorliegt. Weiterhin ist zu beachten, daß ein vorläufiger Schutz nur in einigen Staaten erhältlich ist.

Welche Teile der internationalen Anmeldung können geändert werden?

Im Rahmen von Artikel 19 können nur die Ansprüche geändert werden.

In der internationalen Phase können die Ansprüche auch nach Artikel 34 vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde geändert (oder nochmals geändert) werden. Die Beschreibung und die Zeichnungen können nur nach Artikel 34 vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde geändert werden.

Beim Eintritt in die nationale Phase können alle Teile der internationalen Anmeldung nach Artikel 28 oder gegebenenfalls Artikel 41 geändert werden.

Bis wann sind Änderungen einzureichen?

Innerhalb von zwei Monaten ab der Übermittlung des internationalen Recherchenberichts oder innerhalb von sechzehn Monaten ab dem Prioritätsdatum, je nachdem, welche Frist später abläuft. Die Änderungen gelten jedoch als rechtzeitig eingereicht, wenn sie dem Internationalen Büro nach Ablauf der maßgebenden Frist, aber noch vor Abschluß der technischen Vorbereitungen für die internationale Veröffentlichung (Regel 46.1) zugehen.

Wo sind Änderungen nicht einzureichen?

Die Änderungen können nur beim Internationalen Büro, nicht aber beim Anmeldeamt oder der Internationalen Recherchenbehörde eingereicht werden (Regel 46.2).

Falls ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung eingereicht wurde/wird, siehe unten.

In welcher Form können Änderungen erfolgen?

Eine Änderung kann erfolgen durch Streichung eines oder mehrerer ganzer Ansprüche, durch Hinzufügung eines oder mehrerer neuer Ansprüche oder durch Änderung des Wortlauts eines oder mehrerer Ansprüche in der eingereichten Fassung.

Für jedes Anspruchsblatt, das sich aufgrund einer oder mehrerer Änderungen von dem ursprünglich eingereichten Blatt unterscheidet, ist ein Ersatzblatt einzureichen.

Alle Ansprüche, die auf einem Ersatzblatt erscheinen, sind mit arabischen Ziffern zu numerieren. Wird ein Anspruch gestrichen, so brauchen die anderen Ansprüche nicht neu numeriert zu werden. Im Fall einer Neunummerierung sind die Ansprüche fortlaufend zu numerieren (Verwaltungsvorschriften, Abschnitt 205 b)).

Die Änderungen sind in der Sprache abzufassen, in der die internationale Anmeldung veröffentlicht wird.

Welche Unterlagen sind den Änderungen beizufügen?

Begleitschreiben (Abschnitt 205 b)):

Die Änderungen sind mit einem Begleitschreiben einzureichen.

Das Begleitschreiben wird nicht zusammen mit der internationalen Anmeldung und den geänderten Ansprüchen veröffentlicht. Es ist nicht zu verwechseln mit der "Erklärung nach Artikel 19(1)" (siehe unten, "Erklärung nach Artikel 19 (1)").

Das Begleitschreiben ist nach Wahl des Anmelders in englischer oder französischer Sprache abzufassen. Bei englischsprachigen internationalen Anmeldungen ist das Begleitschreiben aber ebenfalls in englischer, bei französischsprachigen internationalen Anmeldungen in französischer Sprache abzufassen.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

**VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS**

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 5208/OA/WO-Koe	WEITERES VORGEHEN	siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 00/ 05378	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 10/06/2000	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 18/06/1999
Anmelder ROCHE DIAGNOSTICS GMBH		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 6 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

- a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

☐ Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

- b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.

☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☐ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☒ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der Zusammenfassung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. _____

☐ wie vom Anmelder vorgeschlagen

☐ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

☒ keine der Abb.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☐ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich

2. ☐ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich

3. ☐ Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

siehe Zusatzblatt

1. ☒ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.

2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.

3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.

4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich des Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☒ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere (Gruppen von) Erfindungen enthält, nämlich:

1. Ansprüche: 1-14

Vorrichtung zur Durchführung biochemischer Reaktionen umfassend aus einem äusseren Gehäuse, einem inneren Gehäuse mit Vertiefungen und einer semipermeablen Membran, sowie Verfahren zur Durchführung biochemischer Reaktionen mittels der Vorrichtung.

2. Anspruch : 15

Kit bestehend aus einer Lösung, einer energiereichen Verbindung, einer tRNA-Fraktion, einer RNA-Polymerase und einem zellfreien Lysat.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/05378

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C12M1/40 C12P21/02 B01J19/24 B01J19/00 C12Q1/68
C12N9/12 C12N15/10

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C12M C12P B01J G01N C12Q C12N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

PAJ, EPO-Internal, WPI Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	<p>WO 97 04074 A (MARTIN L. WOLF & JOHN WILSON) 6. Februar 1997 (1997-02-06)</p> <p>Abbildung 3</p> <p>Seite 14, Zeile 16 - Zeile 34</p> <p>Seite 13, Zeile 8 - Zeile 21</p> <p>Seite 11, Zeile 6 - Zeile 29</p> <p>Seite 10, Zeile 16 - Zeile 25</p> <p>Seite 9, Zeile 16 - Zeile 29</p> <p>Seite 8, Zeile 28 - Seite 9, Zeile 2</p> <p>Zusammenfassung</p> <p style="text-align: center;">-/-</p>	1,2,6-14



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

- *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

29. November 2000

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

07.12.2000

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Stevnsborg, N

THIS PAGE BLANK (USPTO)

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	<p>KIM D M ET AL: "A semicontinuous prokaryotic coupled transcription/translation system using a dialysis membrane." BIOTECHNOLOGY PROGRESS., Bd. 12, Nr. 5, September 1996 (1996-09), Seiten 645-649, XP002106860 ISSN: 8756-7938 Zusammenfassung Abbildung 4 Seite 646, Spalte 1, Absatz 7 Seite 648, Spalte 1, Absatz 2</p>	1,2,6-14
Y	<p>PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 1998, no. 04, 31. März 1998 (1998-03-31) & JP 09 322755 A (RIKAGAKU KENKYUSHO & SAINIKUSU K.K.), 16. Dezember 1997 (1997-12-16) Zusammenfassung; Abbildungen & DATABASE WPI Section Ch, Week 199810 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B04, AN 1998-103992 & JP 09 322755 A (RIKAGAKU KENKYUSHO & SAINIKUSU K.K.), 16. Dezember 1997 (1997-12-16) Zusammenfassung</p>	1,2,6-14
X	<p>US 5 593 856 A (CHA-YONG CHOI ET AL.) 14. Januar 1997 (1997-01-14) Spalte 1, Absatz 1 Spalte 4, Zeile 22 - Zeile 58 Spalte 5, Zeile 14 - Zeile 36 Spalte 5, Zeile 61 - Zeile 64 Beispiel 2</p>	15
P, X	<p>WO 99 50436 A (ROCHE DIAGNOSTICS) 7. Oktober 1999 (1999-10-07) Seite 1, Absatz 1 Seite 26, letzter Absatz -Seite 27, Absatz 1 Seite 27, letzter Absatz</p>	15
A	<p>DE 37 23 004 A (BOEHRINGER INGELHEIM KG) 26. Januar 1989 (1989-01-26) das ganze Dokument</p>	1
A	<p>EP 0 894 852 A (BOEHRINGER MANNHEIM GMBH) 3. Februar 1999 (1999-02-03) Zusammenfassung Abbildung 1</p>	1

	--- -/--	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie ^o	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US 4 642 220 A (RUNE BJÖRKMAN) 10. Februar 1987 (1987-02-10) Spalte 5, Zeile 28 - Zeile 65 Spalte 3, Zeile 65 - Zeile 67 Spalte 2, Zeile 51 - Zeile 67 Spalte 2, Zeile 10 - Zeile 17 Zusammenfassung ----	1-6,8
A	US 5 362 624 A (URBAN SCHMITT ET AL.) 8. November 1994 (1994-11-08) Spalte 2, Zeile 20 - Zeile 27 Spalte 1, Zeile 35 - Zeile 39 Zusammenfassung ----	3-5
A	US 5 478 730 A (JULY B. ALAKHOV ET AL.) 26. Dezember 1995 (1995-12-26) in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument ----	
A	DE 42 37 113 A (KLAUS KÜHN KONSTRUKTION GMBH) 5. Mai 1994 (1994-05-05) in der Anmeldung erwähnt -----	

THIS PAGE BLANK (u88789)

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/05378

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9704074 A	06-02-1997	US 5462874 A EP 0839182 A	31-10-1995 06-05-1998
JP 09322755 A	16-12-1997	KEINE	
US 5593856 A	14-01-1997	KR 131166 B JP 7298893 A	11-04-1998 14-11-1995
WO 9950436 A	07-10-1999	KEINE	
DE 3723004 A	26-01-1989	DE 8717464 U	29-12-1988
EP 0894852 A	03-02-1999	DE 19832160 A JP 11127889 A US 6107055 A	04-02-1999 18-05-1999 22-08-2000
US 4642220 A	10-02-1987	DE 3265181 D EP 0076300 A JP 58500538 T SE 8102316 A WO 8203690 A	12-09-1985 13-04-1983 07-04-1983 11-10-1982 28-10-1982
US 5362624 A	08-11-1994	DE 3901638 A US 5776702 A AT 109892 T AU 609301 B AU 3511089 A CA 1336759 A CN 1038168 A,B DD 283867 A DE 58908167 D DK 233589 A EP 0344578 A ES 2019257 T FI 892540 A HK 1001899 A IE 64286 B JP 2024559 A JP 2824516 B KR 9108704 B ZA 8903909 A AT 107030 T AU 633041 B AU 4858290 A CA 2008100 A DE 59005973 D DK 379216 T EP 0379216 A ES 2055172 T JP 2114263 C JP 2228561 A JP 8027284 B	07-12-1989 07-07-1998 15-08-1994 26-04-1991 30-11-1989 22-08-1995 20-12-1989 24-10-1990 15-09-1994 26-11-1989 06-12-1989 01-11-1994 26-11-1989 17-07-1998 26-07-1995 26-01-1990 11-11-1998 19-10-1991 28-02-1990 15-06-1994 21-01-1993 26-07-1990 20-07-1990 14-07-1994 31-10-1994 25-07-1990 16-08-1994 06-12-1996 11-09-1990 21-03-1996
US 5478730 A	26-12-1995	SU 1705302 A AT 123308 T CA 1318626 A CN 1043743 A DD 279270 A	15-01-1992 15-06-1995 01-06-1993 11-07-1990 30-05-1990

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung

Angaben, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/05378

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 5478730 A		DE 58909270 D	06-07-1995
		EP 0401369 A	12-12-1990
		JP 3503479 T	08-08-1991
		WO 9007003 A	28-06-1990
		AT 130633 T	15-12-1995
		AT 147787 T	15-02-1997
		CA 2064685 A,C	01-02-1991
		CA 2064754 A,C	01-02-1991
		DE 69023773 D	04-01-1996
		DE 69023773 T	24-10-1996
		DE 69029744 D	27-02-1997
		DE 69029744 T	10-07-1997
		DK 593757 T	07-07-1997
		EP 0485608 A	20-05-1992
		EP 0593757 A	27-04-1994
		JP 2891540 B	17-05-1999
		JP 5505095 T	05-08-1993
		WO 9102075 A	21-02-1991
		WO 9102076 A	21-02-1991
DE 4237113 A	05-05-1994	FR 2697525 A	06-05-1994
		GB 2272698 A,B	25-05-1994
		JP 7076596 A	20-03-1995
		US 5506121 A	09-04-1996

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
28. Dezember 2000 (28.12.2000)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 00/78444 A2

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: B01J 19/00

München (DE). **REICHHUBER, Rolf** [DE/DE]; Am
Burgholz 4a, D-82377 Penzberg (DE). **KLUGE, Jochen**
[DE/DE]; Scheidegger Strasse 31, D-81476 München
(DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/05378

(22) Internationales Anmeldedatum:

10. Juni 2000 (10.06.2000)

(74) **Gemeinsamer Vertreter: ROCHE DIAGNOSTICS
GMBH**; Patentabteilung, D-68298 Mannheim (DE).

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(81) **Bestimmungsstaaten (national):** CA, JP, US.

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(84) **Bestimmungsstaaten (regional):** europäisches Patent (AT,
BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC,
NL, PT, SE).

(30) Angaben zur Priorität:

99111762.3

18. Juni 1999 (18.06.1999) EP

(71) **Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme
von US): ROCHE DIAGNOSTICS GMBH** [DE/DE];
D-68298 Mannheim (DE).

Veröffentlicht:

— Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu
veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.

(72) **Erfinder; und**

(75) **Erfinder/Anmelder (nur für US): METZLER, Thomas**
[DE/DE]; Maistrasse 57, D-80337 München (DE).
SCHELS, Hans [DE/DE]; Behamstrasse 21, D-80687

*Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.*

(54) **Title:** METHOD AND DEVICE FOR CARRYING OUT BIOCHEMICAL REACTIONS WITH A HIGH THROUGHPUT

(54) **Bezeichnung:** VERFAHREN UND VORRICHTUNG ZUR DURCHFÜHRUNG BIOCHEMISCHER REAKTIONEN MIT
HOHEM DURCHSATZ

(57) **Abstract:** The invention relates to a device, to a method and to a kit for carrying out biochemical reactions, especially for the cell-free polypeptide biosynthesis. The inventive device consists of an outer housing that surrounds an inner housing with wells incorporated therein and a supply chamber. The wells of the inner housing contain respective producing systems during the biochemical reaction, the supply chamber contains a supply liquid during the biochemical reaction and the wells of the inner housing and the supply chamber are separated by a semi-permeable membrane. The invention is further characterized in that the inner housing is provided with at least two wells the lower ends of which are closed by the semi-permeable membrane and the upper ends of which project from the supply liquid with which the supply chamber is filled. The device is further linked with means for agitating and for adjusting the temperature of the producing systems and the supply liquid.

(57) **Zusammenfassung:** Vorrichtung, Verfahren und Kit zur Durchführung biochemischer Reaktionen, insbesondere für die zell-freie Polypeptid-Biosynthese, bestehend aus einem äusseren Gehäuse, das ein inneres Gehäuse mit eingearbeiteten Vertiefungen und eine Versorgungskammer umschliesst, wobei die Vertiefungen des inneren Gehäuses während der biochemischen Reaktion jeweils ein produzierendes System enthalten, die Versorgungskammer während der biochemischen Reaktion eine Versorgungsflüssigkeit enthält und die Vertiefungen des inneren Gehäuses und die Versorgungskammer durch eine semipermeable Membran getrennt sind, dadurch gekennzeichnet, dass das innere Gehäuse mindestens zwei Vertiefungen aufweist, deren untere Enden mit der semipermeablen Membran abgeschlossen sind und deren obere Enden aus der in der Versorgungskammer enthaltenen Versorgungsflüssigkeit herausragen, und die Vorrichtung mit Mitteln zur Bewegung und Temperierung der Produzierenden Systeme sowie der Versorgungsflüssigkeit verbunden ist.

WO 00/78444 A2

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Verfahren und Vorrichtung zur Durchführung biochemischer Reaktionen mit hohem Durchsatz

Die Erfindung betrifft ein Verfahren sowie eine Vorrichtung zur Durchführung biochemischer Reaktionen, insbesondere für die Polypeptid-Biosynthese bzw. zur gekoppelten in vitro-Transkription und Translation von Proteinen in einem zellfreien System mit Hilfe einer "Multi-channel"-Dialyse-Vorrichtung, wodurch die Synthese unterschiedlicher Proteine nebeneinander in ausreichenden Ausbeuten unter einfachen und reproduzierbaren Bedingungen möglich ist.

Das Prinzip der zellfreien in vitro-Proteinbiosynthese unter Einsatz von Dialysemembranen ist seit mehreren Jahren bekannt und besteht im wesentlichen darin, daß zwei getrennte Kammern (eine für die Reaktionsmischung, eine für die Versorgungslösung) über eine Membran mit geeigneter Porengröße in Verbindung stehen. In der Reaktionskammer erfolgt die Proteinsynthese. In der Versorgungskammer ist eine Lösung mit sämtlichen für die Transkription bzw. Translation benötigten Reaktionskomponenten, die während der laufenden Proteinbiosynthese in der Reaktionsmischung verbraucht werden, enthalten. Bedingt durch die Tatsache, daß beide Kammern über eine semipermeablen Membran in Verbindung stehen, können verbrauchte Reaktionskomponenten in der Reaktionskammer, gegebenenfalls mittels einer entsprechenden Pumpeinrichtung, fortlaufend durch neue Komponenten aus der Versorgungskammer ersetzt werden, wodurch die Synthese über einen deutlich längeren Zeitraum im Vergleich zum statischen System, d.h. einer entsprechenden, in einem nicht unterteilten Reaktionsgefäß stattfindenden Reaktion, aufrechterhalten bleibt. Entsprechende Verfahren für die zellfreie in vitro-Biosynthese nach dem "continous-flow" bzw. "continous exchange"-Prinzip sind beispielsweise in US 5.478.730, EP 0 593 757 und von Spirin et al. in Science vol. 242, 1988, S. 1162-1164 beschrieben.

Das gemäß der Patentschrift US 5.478.730 verwendete Synthesystem enthält beispielsweise eine Quelle von DNA bzw. mRNA, die das Polypeptid codiert. Weiter sind in dem zellfreien Synthesystem im wesentlichen Ribosomen, tRNA, Aminosäuren, ATP, GTP, UTP und CTP enthalten. Die Transkription der DNA bzw. die Translation der mRNA mit Hilfe der tRNA führt zur Produktion des jeweiligen Polypeptids, wobei zugleich Nebenprodukte und Abfallstoffe mit niedrigerem Molekulargewicht entstehen. Diese können durch eine semipermeable Membran, die den Raum, in dem das Synthesystem enthalten ist, von einem Versorgungsraum trennt, in den Ver-

sorgungsraum übertreten. Der Versorgungsraum enthält eine als Versorgungsmedium wirkende Flüssigkeit, in der insbesondere ATP, GTP und Aminosäuren enthalten sind. Diese Komponenten werden durch die semipermeable Membran dem Synthesystem zugeführt, um den Verbrauch während der Biosynthesereaktion zu ersetzen. Der Durchtritt durch die semipermeable Membran ist möglich, weil ihr Molekulargewicht unterhalb von deren Durchlaßgrenze liegt. Zugleich gelangen Produkte der biochemischen Reaktion und andere Substanzen, deren Molekulargewicht unterhalb der Durchlaßgrenze der Barriere liegt, aus dem Reaktionsraum in den Versorgungsraum. Die semipermeable Membran ist gemäß der US Patentschrift 5.478.730 beispielsweise eine Ultrafiltrationsmembran in Form von Membran-Hohlfasern.

Die US Patentschrift 5.478.730 enthält umfangreiche weitere Erläuterungen über geeignete Zusammensetzungen des Synthesystems und der Versorgungsflüssigkeit. Insoweit bezieht sich die vorliegende Erfindung auf den vorbekannten Stand der Technik, wie er insbesondere dieser US Patentschrift und den darin zitierten Literaturstellen zu entnehmen ist. Deren Inhalt wird durch Bezugnahme zum Inhalt der vorliegenden Anmeldung gemacht.

Das europäische Patent 0 593 757 beschreibt die Anwendung der gekoppelten Transkription und Translation für entsprechende in vitro-Biosyntheseverfahren, wobei im wesentlichen zusätzlich eine RNA-Polymerase der Reaktionsmischung zugesetzt wurde.

Darüber hinaus sind diverse Dialyse-Vorrichtungen bzw. -Membranen bekannt. Man unterscheidet dabei im wesentlichen sogenannte "single tube" und "Multi-channel"-Ausführungen. Die beschriebenen bzw. kommerziell erhältlichen und für die in vitro-Proteinbiosynthese geeigneten Dialysematerialien beruhen ausschließlich auf dem "single tube"-Prinzip (z.B. EP 99 91 01 418.4; Promega Notes 1997). Ein hoher Durchsatz bzw. die Synthese unterschiedlicher Proteine nebeneinander, darüber hinaus ohne aufwendige Aufreinigungsmaßnahmen, oder anderen Maßnahmen, wie z.B. für die Denaturierung von als "inclusion bodies" anfallenden Proteinen, ist mittels dieser Dialyse-Hilfsmittel nicht möglich. Ferner sind die Dialyse-Vorrichtungen nach dem "single-tube"-Prinzip mit dem Nachteil verbunden, daß sie technisch und zeitlich aufwendig zu handhaben sind.

Ferner werden Mikrotiterplatten mit Vertiefungen, welche am unteren Ende mit einer porösen Membran versehen sind, kommerziell angeboten. Sogenannte "Multi-channel"-Ausführungen sind ausschließlich für Zellkulturanwendungen bzw. für Filtrations- oder Umpufferungsvorgänge geeignet (z.B. Ultrafiltrationsmembranen von Milipore; Slide-A-Lyzer® MINI Dialysis Unit von

Pierce). Ein Austausch zwischen Flüssigkeiten unterschiedlicher Konzentrationen, wie sie bei der in vitro-Transkription bzw. in vitro-Translation verwendet werden, ist mit diesen "Multi-channel"-Vorrichtungen jedoch nicht möglich, weshalb diese für in vitro-Proteinsynthese-Anwendungen, beispielsweise mit kontinuierlicher Zufuhr bzw. Entnahme von Komponenten nicht geeignet sind.

Der Erfindung liegt somit die Aufgabe zugrunde ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Verfügung zu stellen, mit denen die Durchführung biochemischer Reaktionen mit hoher Effektivität und zugleich einfach und gut reproduzierbar möglich ist.

Die Aufgabe wird gelöst durch eine Vorrichtung zur Durchführung biochemischer Reaktionen, insbesondere für die zellfreie Polypeptid-Biosynthese und/oder für die Herstellung biologisch aktiver und nativ strukturierter Proteine, bestehend aus einem äußeren Gehäuse, das ein inneres Gehäuse mit eingearbeiteten Vertiefungen und eine Versorgungskammer umschließt, wobei die Vertiefungen des inneren Gehäuses während der biochemischen Reaktion jeweils ein produzierendes System enthalten, die Versorgungskammer eine Versorgungsflüssigkeit enthält und die Vertiefungen des inneren Gehäuses und die Versorgungskammer durch eine semipermeable Membran getrennt sind, dadurch gekennzeichnet, daß das innere Gehäuse mindestens zwei Vertiefungen aufweist, deren untere Enden mit der semipermeablen Membran abgeschlossen sind und deren obere Enden aus der in der Versorgungskammer enthaltenen Versorgungsflüssigkeit herausragen, und mit Mitteln zur Bewegung und Temperierung der produzierenden Systeme sowie der Versorgungsflüssigkeit verbunden ist.

Als äußere Gehäuse kommen erfindungsgemäß beispielsweise schalen- oder zylinderförmige Gefäße in Betracht, die zur Flüssigkeitsaufnahme befähigt sind und in denen ein geometrisch kleineres, inneres Gehäuse einsetzbar und gegebenenfalls fixierbar ist. Das innere Gehäuse kann, entsprechend dem äußeren Gehäuse, größen- und formgemäß beliebige äußere Ausmaße haben. Beispielsweise sind runde, rechteckige oder quadratische Anordnungen für das äußere Gehäuse mit Volumina von ca. 10 ml bis mehrere Liter geeignet. Vorteilhaft ist, wenn das innere Gehäuse möglichst weitgehend an die Geometrie des äußeren Gehäuses angepaßt ist. Ferner kann es sich bei dem inneren Gehäuse um ein Mikrotiterplatten (MTP)-Format handeln. Dadurch ist eine einfache Automatisierung bzw. Beschleunigung der einzelnen Arbeitsschritte möglich.

Das innere Gehäuse weist eine oder mehrere Vertiefungen auf, bevorzugt ist eine Anzahl zwei oder mehr, z. B. sechs, acht, zwölf, 24, 48, 64, 96, 384 etc. Es sind jedoch prinzipiell auch innere

Gehäuse, beispielsweise in Form von Blöcken oder Mikrotiterplatten, die mehrere hundert bis 1000 oder mehr Vertiefungen für die erfindungsgemäße Vorrichtung aufweisen, einsetzbar. Die Vertiefungen sind in der Regel aus einem inertem Material, wie beispielsweise Polyethylen oder Polypropylen, gefertigt und können für Volumina von ca. 50 μ l bis zu mehreren Millilitern, d.h. in der Größenordnung von 10 ml ausgerichtet sein. Vorteilhaft sind konisch zulaufende Vertiefungen, die am unteren Ende mit einer semipermeablen Membran, wie z. B. einer Dialysemembran mit einer Porengröße von 3 bis 100 Kilo Dalton, verschlossen sind. Prinzipiell können erfindungsgemäß sämtliche gängigen Dialyse- bzw. Ultrafiltrationsmembranen mit entsprechender Porengröße eingesetzt werden. Besonders geeignet haben sich Dialysemembranen mit einer Porengröße von ca. 10 bis 14 Kilo Dalton erwiesen. Dadurch können insbesondere störende niedermolekulare, inhibitorische Substanzen, die bei der in vitro-Biosynthese entstehen, abgetrennt werden. Zur Abdichtung der oberen Öffnungen der Vertiefungen, d.h. des aus der in der Versorgungskammer enthaltenen Versorgungsflüssigkeit herausragenden Teils der Vertiefungen des inneren Gehäuses, kann entweder jede Vertiefung für sich oder auch alle Vertiefungen gemeinsam mit einer Verschlusskappe oder Folie versehen sein. Alternativ kann auch ein Verschlussdeckel zur Abdichtung des äußeren Gehäuses insgesamt angebracht sein.

Eine weitere bevorzugte Ausführungsform des inneren Gehäuses der erfindungsgemäßen Vorrichtung besteht aus einer Schicht von Blöcken mit einer Vielzahl von Bohrungen. Über einem ersten Block befindet sich ein weiterer, flacher Block mit der gleichen Bohrungsgeometrie. Zwischen beide Blöcke wird eine Filter- bzw. semipermeable Membran eingebracht. Der zweite flachere Block ist zum Auffangen von Nebenprodukten bzw. Abfallstoffen geeignet, die somit nicht bzw. lediglich in sehr geringem Umfang in den Versorgungsraum gelangen. Im Ergebnis erhält man ein inneres Gehäuse mit Vertiefungen, welche jeweils durch eine Membran in Reaktionsraum und eine sogenannte zweite Versorgungs- bzw. Dialysekammer unterteilt sind. Durch beidseitigen Abschluß des inneren Gehäuses durch Dialysemembranen wird einerseits die für den Austausch zur Verfügung stehende Fläche verdoppelt und andererseits kommt es dadurch kaum zu Volumenänderungen in den Proben. Besonders vorteilhaft bei dieser Ausführungsform ist, daß sich in der die in vitro-Proteinsynthese unterhaltenden Versorgungsflüssigkeit nicht verwertbare Komponenten weit weniger bzw. zeitlich verzögert anreichern, wodurch die Effektivität der Proteinsynthese weiter erhöht wird.

Darüber hinaus hat sich als vorteilhaft erwiesen, wenn die Wände der einzelnen Vertiefungen ("Wells") des inneren Gehäuses mit die in vitro synthetisierten Proteine bzw. Peptide spezifisch bindenden Komponenten beschichtet sind. Entsprechende Komponenten sind insbesondere sol-

che, die zur Reinigung von "tag"-enthaltenden Proteinen geeignet sind. Das in den Wells in vitro synthetisierte Protein (tag enthaltend) kann so an die beschichtete Mikrotiterplatte gebunden und anschließend direkt, gegebenenfalls nach Waschen mit geeigneten Puffern, gereinigt werden bzw. durch geeignete Reagenzien in sauberer Form eluiert werden. Als sogenanntes Protein-tag ist beispielsweise Strep-Tag II (8AS-Sequenz, s. DE 42 37 113), das entweder N- oder C-terminal an das in vitro-synthetisierte Protein gebunden sein kann, anzuführen. Als Beschichtungssubstanzen können beispielsweise Streptactin, Streptavidin oder Avidin eingesetzt werden. Verfahren zur Beschichtung entsprechender Oberflächen sind dem Fachmann prinzipiell bekannt. Alternativ ist auch möglich, die synthetisierten, tag-tragenden Proteine mittels entsprechend beschichteter Glas- bzw. Magnetpartikel aus der Reaktionsmischung der einzelnen Vertiefungen zu separieren.

Ferner ist die erfindungsgemäße Vorrichtung mit einer Rühr- oder Schüttelvorrichtung ausgestattet, um eine ausreichende Bewegung bzw. Diffusion der Reaktionslösung(en) und der Versorgungslösung zu garantieren. Als vorteilhaft hat sich erwiesen, wenn in der Versorgungskammer und gegebenenfalls in jeder einzelnen Vertiefung, in der eine Reaktion abläuft, ein Rührelement in Form eines Magnetrührers eingebracht ist. Dadurch wird eine simultane Durchmischung des produzierenden Systems bzw. der Mischungen in den einzelnen Vertiefungen und der umliegenden Versorgungslösung gewährleistet. Zur Gewährleistung einer konstanten Temperatur während der biochemischen Reaktion – welche in der Regel zwischen 20° und 37°C beträgt – wird die gesamte Vorrichtung am einfachsten vollständig in einen verschließbaren Inkubator eingebracht oder unter einer temperierbaren Inkubationshaube gehalten. Darüber hinaus sind erfindungsgemäß kombinierte Schüttel- bzw. Rühr- und Thermostatisiergerät einsetzbar. Die Durchmischung der Reaktionsmischung(en), als auch der Versorgungslösung kann somit simultan mit Schüttel- bzw. Rührbewegungen geeigneter Frequenz sowie über einen längeren Zeitraum bei konstanter Temperatur erfolgen.

In der Regel ist ausreichend, die Reaktionsmischung(en) über einen Zeitraum von ca. 20 Stunden zu inkubieren, um das bzw. die gewünschten Proteine bzw. Peptide in ausreichenden Ausbeuten zu erhalten. Abhängig von dem zu synthetisierenden Protein bzw. der Optimierung der einzelnen Verfahrensparameter bzw. der genauen Zusammensetzung der Versorgungslösung können bereits nach ca. 6 Stunden ca. 25 bis 50 µg Protein /250 µl Reaktionslösung in einer Vertiefung (Well), was einer Konzentration von 100 bis 200 µg/ml entspricht, erzielt werden. Durch verlängerte Inkubationszeiten können darüber hinaus entsprechend bessere Ausbeuten erreicht wer-

den, beispielsweise wurden für GFP (Green Fluorescent Protein) Konzentrationen bis zu 500 µg/ml erhalten.

Eine weitere bevorzugte Ausführungsform der Erfindung ist, wenn abhängig von der Anzahl bzw. dem Gesamtvolumen der Vertiefungen des inneren Gehäuses das Volumen der Versorgungslösung bestimmt wird. Als Richtlinie gilt erfindungsgemäß, daß das Volumen der Versorgungslösung gleich der Summe aus der Anzahl der Vertiefungen und dem Volumen pro Vertiefung multipliziert mit dem Faktor 10 entspricht.

Die Zusammensetzung der Versorgungslösung entspricht im wesentlichen entsprechenden Lösungen für die zellfreie in vitro-Biosynthese des Standes der Technik. Dem Fachmann ist darüber hinaus geläufig, daß Versorgungslösungen für die zellfreie Proteinsynthese bestimmten üblichen Optimierungsmaßnahmen unterliegen, insbesondere je nach Art und Beschaffenheit der verwendeten Ribosomenfraktion, d.h. ob beispielsweise ein eukaryontisches oder prokaryontisches System als Grundlage für die zellfreie in vitro-Biosynthese verwendet wird. Als vorteilhaft hat sich darüber hinaus erwiesen, wenn die Versorgungslösung ein Sulfidgruppen reduzierendes Mittel sowie – im Falle eines Lysats auf *E. coli*-Basis – einen Inhibitor für *E. coli*-Polymerasen, und gegebenenfalls eine oder mehrere geeignete bakterizide Substanzen enthält.

Eine erfindungsgemäß besonders vorteilhafte Versorgungslösung für eine gekoppelte Transkriptions-/Translationsreaktion umfaßt in einem geeigneten Puffersystem wie z.B. Hepes, ca. 150 bis 400 mM Kaliumionen, ca. 10 bis 50 mM Magnesiumionen, ausreichende Mengen der vier Nukleotidtriphosphate (ATP, CTP, GTP und UTP) sowie sämtlicher natürlich vorkommender Aminosäuren, ca. 20 bis 80 mM Acetylphosphat, Dithiothreitol als Sulfidgruppen reduzierendes Reagenz sowie gegebenenfalls EDTA, Glycerin, eine oder mehrere bakterizide Substanzen wie z.B. Rifampicin oder Natriumazit und bevorzugt – im Fall einer Ribosomenfraktion auf *E. coli*-Basis – einen RNA-Polymerasen-Inhibitor wie z.B. Rifampicin zur Deaktivierung von *E. coli*-Polymerasen. Ein typischer Reaktionsansatz für eine Transkriptions-/Translationsreaktion enthält entsprechende Komponenten in vergleichbaren Mengen wie die Versorgungslösung. Darüber hinaus beinhaltet ein erfindungsgemäßer Reaktionsansatz die jeweilige eukaryotische oder prokaryotische Ribosomenfraktion wie z.B. ein *E. coli*-Lysat, die für das gewünschte Protein kodierende DNA in Form eines Plasmids, ca. 1 bis 10 U/µl einer RNA-Polymerase, ca. 200 bis 800 µg/ml einer tRNA sowie gegebenenfalls weitere Hilfsstoffe, wie z.B. RNase-Inhibitoren.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Durchführung einer und insbesondere mehrerer parallel laufender biochemischer Reaktionen mittels der erfindungsgemäßen Vorrichtung, wobei während der biochemischen Reaktion die Versorgungsflüssigkeit in der Versorgungskammer nicht einem äußerlich auferlegtem Druck unterliegt, so daß der molekulare Austausch zwischen der Versorgungskammer und den Lösungen der einzelnen Vertiefungen des inneren Gehäuses im wesentlichen auf Diffusion basiert.

Das erfindungsgemäße Verfahren bzw. die hierfür geeignete Vorrichtung eignet sich insbesondere für automatisierte Anwendungen mit hohem Synthesedurchsatz.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Reaktionskit zur Durchführung von in vitro-Proteinsynthesen bzw. zur gekoppelten in vitro-Transkription und Translation von Proteinen im zellfreien System mit einer entsprechenden Vorrichtung. Der Kit besteht im wesentlichen aus einer Versorgungslösung und einer Lösung für den bzw. die Reaktionsansätze. Die Lösungen können in flüssiger Form sowie in gefriergetrocknetem Zustand vorliegen. Die Versorgungslösung beinhaltet im wesentlichen eine zwischen pH 7 und 8 puffernde Substanz, ca. 150 bis 400 mM Kaliumionen, ca. 10 bis 50 mM Magnesiumionen, Nukleotidtriphosphate (ATP, CTP, GTP und UTP), ca. 20 unterschiedliche Aminosäuren und eine Sulfidgruppen reduzierende Substanz. Darüber hinaus können der Versorgungslösung weitere Hilfsstoffe wie Stabilisatoren oder Inhibitoren zur Vermeidung nicht erwünschter Reaktionen zugesetzt sein. Die Lösung für die Reaktionsansätze entspricht der Lösung der vorgenannten Versorgungslösung und umfaßt darüber hinaus ein zellfreies Lysat, d.h. eine prokaryotische oder eukaryotische Ribosomenfraktion, tRNA und eine RNA-Polymerase, deren Ursprung von der der Ribosomenfraktion unterschiedlich ist. Erfindungsgemäß besonders bevorzugt ist, wenn die von den Komponenten der Versorgungslösung sich unterscheidenden Komponenten der Lösung für die Reaktionsansätze erst kurz vor Durchführung der Reaktion beigemischt werden, d.h. jeweils in separaten Gefäßen vorliegen. Entsprechendes gilt für sowohl der Versorgungslösung als auch der Reaktionslösung zuzusetzende energiereiche Verbindungen wie z.B. Acetylphosphat. Dadurch wird die Lagerfähigkeit und die Adaptionfähigkeit des Reaktionskits weiter verbessert.

Durch die nachfolgenden Beispiele wird die Erfindung weiter erläutert.

Beispiel 1:

Das erfindungsgemäße Verfahren zur zellfreien Proteinbiosynthese wird mit einem *E. coli* Lysat an zwei Modellproteinen (CAT und GFP) in folgendem näher erläutert:

Die zellfreie Proteinbiosynthese wird in Form einer gekoppelten Transkription und Translation durchgeführt, bei der die zu transkribierende mRNA auf einem Plasmid kodiert ist, dessen Gensequenz einen Promotor für eine virale RNA-Polymerase (z. B. SP6-, T3- oder T7-RNA-Polymerase) enthält.

Die in vitro transkribierte mRNA wird mit Hilfe des im gekoppelten Systems befindlichen *E. coli* Lysats in das entsprechende Protein translatiert.

A) Reaktionskomponenten:

Plasmide: pM-GFP oder pIVEX-GFP enthalten die Sequenz für das Green Fluorescent Protein aus *Aequorea victoria* in Form einer Mutante GFPcycle3 (27 kiloDalton) (Nature Biotechnology, 1996, 14, p.315-319); die kodierende Region der GFPcycle3 Mutante wurde in pTU58 anstelle der Wild-Typ GFP-Sequenz kloniert (Science, 1994, 263,802).

pHM-CAT enthält die Sequenz für das Chloramphenicol-Acetyltransferase-Protein (22,5 kiloDalton).

Konstruktion: Ein Insert (NcoI – BamHI) aus pCAT3 (Promega) wurde in pHM19 inseriert (FU Berlin, Institut f. Biochemie, Dr. Stiege).

E.coli S30 Lysat: Das Lysat wurde mit einem *E. coli* A19-Stamm nach einem modifizierten Verfahren nach Zubay (Annu. Rev. Genet. 7, 267, 1973) präpariert.

Lysatpuffer: 100 mM Hepes-KOH pH 7,6/30°C, 14 mM Magnesium-acetat, 60 mM Kalium-acetat, 0,5 mM Dithiothreitol

Zusammensetzung der Reaktions- und Versorgungslösung:Transkriptions-/Translations-Reaktionsansatz:

185 mM Kalium-acetat, 15mM Magnesium-acetat, 4% Glyzerin, 2,06 mM ATP, 1,02 mM CTP, 1,64 mM GTP, 1,02 mM UTP, 257 µM pro Aminosäure (insgesamt 20), 10,8 µg/ml Folinsäure, 1,03 mM EDTA, 100 mM Hepes-KOH pH 7,6/30°C, 1 µg/ml Rifampicin, 0,03% Natriumazit, 40 mM Acetylphosphat, 480 µg/ml t RNA aus E.coli MRE600, 2mM Dithiothreitol, 10mM MESNA (Mercaptoethanesulfonic acid), 70 mM Kaliumhydroxid, 0,1 u/µl RNaseInhibitor, 15 µg/ml Plasmid, 220 µl/ml E.coli A19-Lysat, 2 U/µl T7 RNA Polymerase.

Versorgungslösung:

185 mM Kalium-acetat, 15 mM Magnesium-acetat, 4% Glyzerin, 2,06 mM ATP, 1,02 mM CTP, 1,64 mM GTP, 1,02 mM UTP, 257 µM pro Aminosäure (insgesamt 20), 10,8 µg/ml Folinsäure, 1,03 mM EDTA, 100 mM Hepes-KOH pH 7,6/30°C, 1 µg/ml Rifampicin, 0,03% Natriumazit, 40 mM Acetylphosphat, 2 mM Dithiothreitol, 10 mM MESNA (Mercaptoethanesulfonic acid), 70 mM Kaliumhydroxid, Lysatpuffer wie oben beschrieben mit 220 µl/ml.

B) Vorrichtung:

In dem hier beschriebenen Beispiel wurde ein Multi-channel-Dialyzer in Form einer Mikrotiterplatte eingesetzt. Die Böden der einzelnen Vertiefungen der Mikrotiterplatte (Wells) wurden mit einer Dialysemembran mit einem cut off-Volumen von 10 Kilo Dalton ausgestattet. Das maximale Reaktionsvolumen pro Well betrug 200 µl. Das Gehäuse für die Versorgungslösung hatte eine Volumenkapazität von 200 ml.

C) Bewegung, Abdeckung:

Schüttelgerät: Flow Laboratories, Typ: Titertek®, mit der Schüttelfrequenz Stufe 4,5

Inkubationshaube: Edmund Bühler, Typ: TH25, mit der Temperatur 30°C

D) Durchführung:

Es wurden getrennte Reaktionsansätze gemäß oben angegebener Zusammensetzung pipettiert:

- 1) Für die Expression von GFP mit pM-GFP bzw. mit pIVEX-GFP
- 2) Für die Expression von CAT mit pHM-CAT

Für jeden Ansatz wurde ein Volumen von 8,4 ml angesetzt und davon jeweils 200 µl in insgesamt 40 Wells pipettiert (0,4 ml als Überdosierung), das heißt 40 Wells pro Ansatz und Protein.

Für die Versorgungskammer wurden 200 ml Versorgungslösung gemäß oben angegebener Zusammensetzung pipettiert. Das heißt, es wurde eine gemeinsame Versorgungslösung für beide Reaktionsansätze verwendet.

Nach Abdichten der Mikrotiterplatte mit einer Klebefolie wurde die Vorrichtung auf das Schüttelgerät fixiert, welches sich unter der Inkubationshaube befand.

Nach Einstellen der Schüttelfrequenz und der Inkubationstemperatur von 30°C erfolgte eine 20 stündige Inkubation der Reaktionsansätze.

E) Auswertung:

- 1) Expression von GFP:

Die Messung der Proben erfolgte mit einem Spektral-Fluorimeter der Fa. Kontron, Typ: TEGIMENTA, SFM25.

Die Anregung (Excitation) erfolgt bei einer Wellenlänge von 395 nm.

Die Emissionsrate bei 580 bis 430 nm.

Das Emissionsmaximum liegt bei 510 nm.

Als Standard wurde das rGFP (rekombinantes GFP) von Roche Diagnostics, Katalog-Nummer 1814524 verwendet.

Die Proben wurden mit dem Lysatpuffer 1 : 200, der Standard auf 1 µg/ml und 2 µg/ml verdünnt.

Tabelle 1:

10 Werte der erhaltenen 40 (die alle im selben Bereich liegen) sind als representative Auswahl gezeigt.

Abbildung 1:

Graphische Auswertung der in Tabelle 1 enthaltenen Werte in $\mu\text{g GFP/ml}$ Reaktionslösung in den exemplarisch ausgewählten Wells.

Tabelle 1:

Well-Nummer	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$\mu\text{g GFP/ml}$ Reakt.vol.	366	365	362	356	369	371	365	367	361	365

2) Expression von CAT:

Die Messung der Proben erfolgte über HPLC-Analyse mit dem Geräte-Typ: LKB 2150.

Als Standard wurde ein CAT-Enzym von Roche Diagnostics, Katalog-Nummer 1485156 verwendet.

Tabelle 2:

10 Werte der erhaltenen 40 (die alle im selben Bereich liegen) sind als representative Auswahl gezeigt.

Abbildung 2:

Graphische Auswertung der in Tabelle 2 enthaltenen Werte in $\mu\text{g CAT/ml}$ Reaktionslösung in den exemplarisch ausgewählten Wells.

Tabelle 2:

Well-Nummer	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$\mu\text{g CAT/ml}$ Reaktionslg.	233	230	233	235	228	231	227	228	229	232

Patentansprüche

1. Vorrichtung zur Durchführung biochemischer Reaktionen, insbesondere für die zellfreie Polypeptid-Biosynthese und/oder für die Herstellung von biologisch aktiven und nativ strukturierten Proteinen, bestehend aus einem äußeren Gehäuse, das ein inneres Gehäuse mit eingearbeiteten Vertiefungen und eine Versorgungskammer umschließt, wobei die Vertiefungen des inneren Gehäuses während der biochemischen Reaktion jeweils ein produzierendes System enthalten, die Versorgungskammer während der biochemischen Reaktion eine Versorgungsflüssigkeit enthält und die Vertiefungen des inneren Gehäuses und die Versorgungskammer durch eine semipermeable Membran getrennt sind, dadurch gekennzeichnet, daß das innere Gehäuse mindestens zwei Vertiefungen aufweist, deren untere Enden mit der semipermeablen Membran abgeschlossen sind und deren obere Enden aus der in der Versorgungskammer enthaltenen Versorgungsflüssigkeit herausragen, und mit Mitteln zur Bewegung und Temperierung der produzierenden Systeme sowie der Versorgungsflüssigkeit verbunden ist.
2. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das innere Gehäuse zwischen zwei und ca. 1000 Vertiefungen aufweist.
3. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Vertiefungen an den Seitenwänden mit einer die in vitro synthetisierten Proteine spezifisch bindenden Komponente beschichtet sind.
4. Vorrichtung nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Vertiefungen mit solchen Komponenten beschichtet sind, die zur Reinigung von an die Komponenten bindende Polypeptide geeignet sind.
5. Vorrichtung nach Anspruch 3 oder 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Vertiefungen mit Streptactin, Avidin oder Streptavidin beschichtet sind.
6. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1-5, dadurch gekennzeichnet, daß die Vertiefungen des inneren Gehäuses jeweils ein Volumen zwischen 50 µl und 10 ml aufweisen.

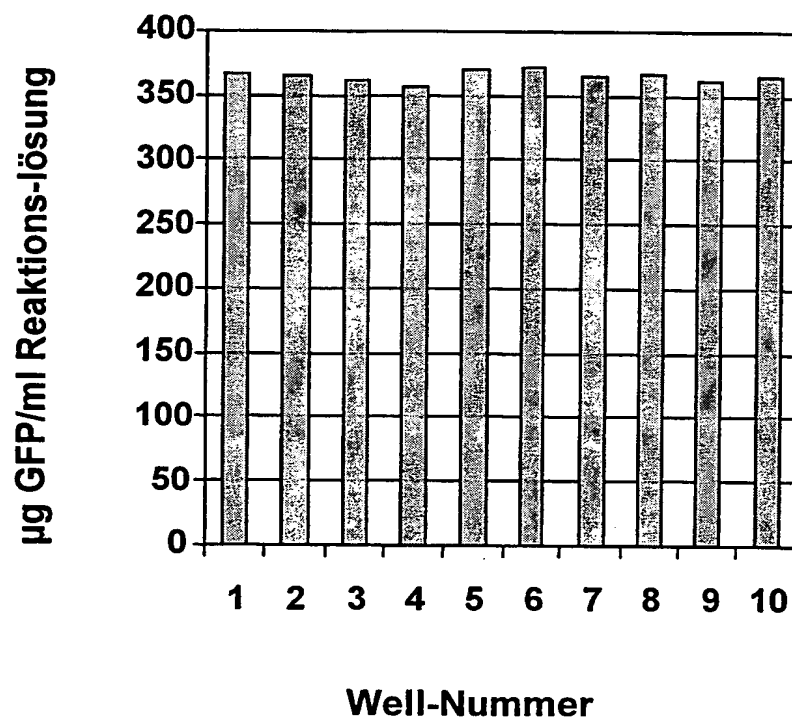
7. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1-6, dadurch gekennzeichnet, daß das Volumen der Versorgungslösung das fünf- bis zwanzigfache der Summe der Volumina der Vertiefungen entspricht.
8. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1-7, dadurch gekennzeichnet, daß es sich bei der semipermeablen Membran um eine Dialysemembran oder Ultrafiltrationsmembran mit einer Porengröße von 3 bis 100 kDa handelt.
9. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1-8, dadurch gekennzeichnet, daß zur Abdichtung der nach oben gewandten Öffnungen der Vertiefungen des inneren Gehäuses jede Vertiefung für sich oder sämtliche Vertiefungen zusammen mit einer Verschlusskappe oder Folie versehen ist oder ein Verschlussdeckel zur Abdichtung des äußeren Gehäuses vorhanden ist.
10. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1-9, dadurch gekennzeichnet, daß die Vertiefungen des inneren Gehäuses durch Blöcke mit gleicher Bohrungsgeometrie mit einer zwischen den Blöcken fixierten Membran gebildet sind.
11. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1-10, dadurch gekennzeichnet, daß die Mittel zur Bewegung dergestalt sind, daß die Durchmischung des produzierenden Systems und der Versorgungslösung simultan erfolgt.
12. Vorrichtung nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß die Durchmischung durch ein Schüttel- oder Rührelement erfolgt.
13. Verfahren zur Durchführung einer oder mehrerer biochemischer Reaktionen parallel mittels einer Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1-12, dadurch gekennzeichnet, daß während der biochemischen Reaktion die Versorgungsflüssigkeit in der Versorgungskammer nicht einem äußerlich auferlegtem Druck unterliegt, so daß der molekulare Austausch zwischen der Versorgungskammer und den einzelnen Vertiefungen des inneren Gehäuses im wesentlichen auf Diffusion basiert.
14. Verfahren nach Anspruch 13 in Verbindung mit Anspruch 11 oder 12, dadurch gekennzeichnet, daß die Versorgungsflüssigkeit und gegebenenfalls das produzierende System in jeder der vorhandenen Vertiefungen des inneren Gehäuses während der biochemischen Reaktion mittels eines Magnetrührelement bewegt wird.

15. Kit bestehend aus folgenden Komponenten

- 1) einer Lösung, welche eine zwischen pH 7 und 8 puffernde Substanz, 150 bis 400 mM Kaliumionen, 10 bis 50 mM Magnesiumionen, Nukleotidtriphosphate, Aminosäuren und eine Sulfidgruppen reduzierende Substanz enthält,
- 2) einer energiereichen Verbindung,
- 3) einer tRNA-Fraktion, und gegebenenfalls
- 4) einer RNA-Polymerase und/oder
- 5) einem zellfreien Lysat.

1 / 2

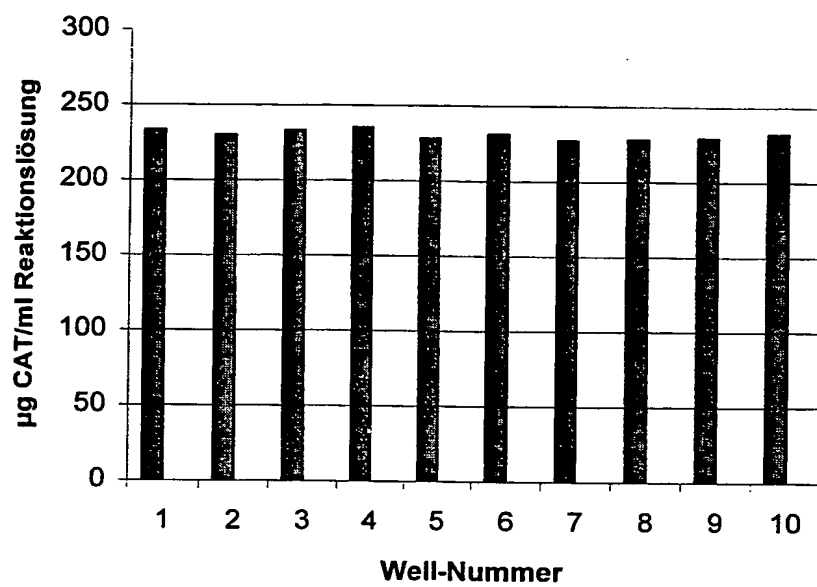
Fig 1



THIS PAGE BLANK (USPTO)

2/2

Fig 2



THIS PAGE BLANK (USPTO)

09/763,077

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
28. Dezember 2000 (28.12.2000)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 00/78444 A3

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C12M 1/40,
C12P 21/02, B01J 19/24, 19/00, C12Q 1/68, C12N 9/12,
15/10

München (DE). REICHHUBER, Rolf [DE/DE]; Am
Burgholz 4a, D-82377 Penzberg (DE). KLUGE, Jochen
[DE/DE]; Scheidegger Strasse 31, D-81476 München
(DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/05378

(74) Gemeinsamer Vertreter: ROCHE DIAGNOSTICS
GMBH; Patentabteilung, D-68298 Mannheim (DE).

(22) Internationales Anmeldedatum:
10. Juni 2000 (10.06.2000)

(81) Bestimmungsstaaten (national): CA, JP, US.

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(84) Bestimmungsstaaten (regional): europäisches Patent (AT,
BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC,
NL, PT, SE).

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
99111762.3 18. Juni 1999 (18.06.1999) EP

Veröffentlicht:
— Mit internationalem Recherchenbericht.

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme
von US): ROCHE DIAGNOSTICS GMBH [DE/DE];
D-68298 Mannheim (DE).

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen
Recherchenberichts: 26. April 2001

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): METZLER, Thomas
[DE/DE]; Maistrasse 57, D-80337 München (DE).
SCHELS, Hans [DE/DE]; Behamstrasse 21, D-80687

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.

RECEIVED
APR 22 2002
TC 1700

(54) Title: METHOD AND DEVICE FOR CARRYING OUT BIOCHEMICAL REACTIONS WITH A HIGH THROUGHPUT

(54) Bezeichnung: VERFAHREN UND VORRICHTUNG ZUR DURCHFÜHRUNG BIOCHEMISCHER REAKTIONEN MIT
HOHEM DURCHSATZ

(57) Abstract: The invention relates to a device, to a method and to a kit for carrying out biochemical reactions, especially for the cell-free polypeptide biosynthesis. The inventive device consists of an outer housing that surrounds an inner housing with wells incorporated therein and a supply chamber. The wells of the inner housing contain respective producing systems during the biochemical reaction, the supply chamber contains a supply liquid during the biochemical reaction and the wells of the inner housing and the supply chamber are separated by a semi-permeable membrane. The invention is further characterized in that the inner housing is provided with at least two wells the lower ends of which are closed by the semi-permeable membrane and the upper ends of which project from the supply liquid with which the supply chamber is filled. The device is further linked with means for agitating and for adjusting the temperature of the producing systems and the supply liquid.

(57) Zusammenfassung: Vorrichtung, Verfahren und Kit zur Durchführung biochemischer Reaktionen, insbesondere für die zell-freie Polypeptid-Biosynthese, bestehend aus einem äusseren Gehäuse, das ein inneres Gehäuse mit eingearbeiteten Vertiefungen und eine Versorgungskammer umschliesst, wobei die Vertiefungen des inneren Gehäuses während der biochemischen Reaktion jeweils ein produzierendes System enthalten, die Versorgungskammer während der biochemischen Reaktion eine Versorgungsflüssigkeit enthält und die Vertiefungen des inneren Gehäuses und die Versorgungskammer durch eine semipermeable Membran getrennt sind, dadurch gekennzeichnet, dass das innere Gehäuse mindestens zwei Vertiefungen aufweist, deren untere Enden mit der semipermeablen Membran abgeschlossen sind und deren obere Enden aus der in der Versorgungskammer enthaltenen Versorgungsflüssigkeit herausragen, und die Vorrichtung mit Mitteln zur Bewegung und Temperierung der Produzierenden Systeme sowie der Versorgungsflüssigkeit verbunden ist.

WO 00/78444 A3

11-21-22
THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 00/05378

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C12M1/40 C12P21/02 B01J19/24 B01J19/00 C12Q1/68
C12N9/12 C12N15/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12M C12P B01J G01N C12Q C12N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

PAJ, EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>WO 97 04074 A (MARTIN L. WOLF & JOHN WILSON) 6 February 1997 (1997-02-06)</p> <p>figure 3</p> <p>page 14, line 16 - line 34</p> <p>page 13, line 8 - line 21</p> <p>page 11, line 6 - line 29</p> <p>page 10, line 16 - line 25</p> <p>page 9, line 16 - line 29</p> <p>page 8, line 28 -page 9, line 2</p> <p>abstract</p> <p style="text-align: center;">---</p> <p style="text-align: center;">-/--</p>	1,2,6-14



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

29 November 2000

Date of mailing of the international search report

07.12.2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Stevnsborg, N

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 00/05378

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	KIM D M ET AL: "A semicontinuous prokaryotic coupled transcription/translation system using a dialysis membrane." BIOTECHNOLOGY PROGRESS., vol. 12, no. 5, September 1996 (1996-09), pages 645-649, XP002106860 ISSN: 8756-7938 abstract figure 4 page 646, column 1, paragraph 7 page 648, column 1, paragraph 2	1,2,6-14
Y	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 1998, no. 04, 31 March 1998 (1998-03-31) & JP 09 322755 A (RIKAGAKU KENKYUSHO & SAINIKUSU K.K.), 16 December 1997 (1997-12-16) abstract; figures & DATABASE WPI Section Ch, Week 199810 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B04, AN 1998-103992 & JP 09 322755 A (RIKAGAKU KENKYUSHO & SAINIKUSU K.K.), 16 December 1997 (1997-12-16) abstract	1,2,6-14
X	US 5 593 856 A (CHA-YONG CHOI ET AL.) 14 January 1997 (1997-01-14) column 1, paragraph 1 column 4, line 22 - line 58 column 5, line 14 - line 36 column 5, line 61 - line 64 example 2	15
P,X	WO 99 50436 A (ROCHE DIAGNOSTICS) 7 October 1999 (1999-10-07) page 1, paragraph 1 page 26, last paragraph -page 27, paragraph 1 page 27, last paragraph	15
A	DE 37 23 004 A (BOEHRINGER INGELHEIM KG) 26 January 1989 (1989-01-26) the whole document	1
A	EP 0 894 852 A (BOEHRINGER MANNHEIM GMBH) 3 February 1999 (1999-02-03) abstract figure 1	1

-/-

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 00/05378

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>US 4 642 220 A (RUNE BJÖRKMAN) 10 February 1987 (1987-02-10) column 5, line 28 - line 65 column 3, line 65 - line 67 column 2, line 51 - line 67 column 2, line 10 - line 17 abstract</p> <p style="text-align: center;">----</p>	1-6,8
A	<p>US 5 362 624 A (URBAN SCHMITT ET AL.) 8 November 1994 (1994-11-08) column 2, line 20 - line 27 column 1, line 35 - line 39 abstract</p> <p style="text-align: center;">----</p>	3-5
A	<p>US 5 478 730 A (JULY B. ALAKHOV ET AL.) 26 December 1995 (1995-12-26) cited in the application the whole document</p> <p style="text-align: center;">----</p>	
A	<p>DE 42 37 113 A (KLAUS KÜHN KONSTRUKTION GMBH) 5 May 1994 (1994-05-05) cited in the application</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP 00/05378

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

☒

No protest accompanied the payment of additional search fees.

The International Searching Authority found that this International Application contains several inventions or groups of inventions, as follows:

1. Claims Nos.: 1-14

Device for carrying out biochemical reactions that comprises an outer housing, an inner housing with wells and a semi-permeable membrane, and method for carrying out biochemical reactions using said device.

2. Claim No.: 15

Kit that consists of a solution, an energy-rich compound, a tRNA fraction, an RNA polymerase and a cell-free lysate.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

International Application No

PCT/EP 00/05378

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9704074	A	06-02-1997	US 5462874 A EP 0839182 A	31-10-1995 06-05-1998
JP 09322755	A	16-12-1997	NONE	
US 5593856	A	14-01-1997	KR 131166 B JP 7298893 A	11-04-1998 14-11-1995
WO 9950436	A	07-10-1999	NONE	
DE 3723004	A	26-01-1989	DE 8717464 U	29-12-1988
EP 0894852	A	03-02-1999	DE 19832160 A JP 11127889 A US 6107055 A	04-02-1999 18-05-1999 22-08-2000
US 4642220	A	10-02-1987	DE 3265181 D EP 0076300 A JP 58500538 T SE 8102316 A WO 8203690 A	12-09-1985 13-04-1983 07-04-1983 11-10-1982 28-10-1982
US 5362624	A	08-11-1994	DE 3901638 A US 5776702 A AT 109892 T AU 609301 B AU 3511089 A CA 1336759 A CN 1038168 A,B DD 283867 A DE 58908167 D DK 233589 A EP 0344578 A ES 2019257 T FI 892540 A HK 1001899 A IE 64286 B JP 2024559 A JP 2824516 B KR 9108704 B ZA 8903909 A AT 107030 T AU 633041 B AU 4858290 A CA 2008100 A DE 59005973 D DK 379216 T EP 0379216 A ES 2055172 T JP 2114263 C JP 2228561 A JP 8027284 B	07-12-1989 07-07-1998 15-08-1994 26-04-1991 30-11-1989 22-08-1995 20-12-1989 24-10-1990 15-09-1994 26-11-1989 06-12-1989 01-11-1994 26-11-1989 17-07-1998 26-07-1995 26-01-1990 11-11-1998 19-10-1991 28-02-1990 15-06-1994 21-01-1993 26-07-1990 20-07-1990 14-07-1994 31-10-1994 25-07-1990 16-08-1994 06-12-1996 11-09-1990 21-03-1996
US 5478730	A	26-12-1995	SU 1705302 A AT 123308 T CA 1318626 A CN 1043743 A DD 279270 A	15-01-1992 15-06-1995 01-06-1993 11-07-1990 30-05-1990

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

International Application No

PCT/EP 00/05378

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5478730 A		DE 58909270 D	06-07-1995
		EP 0401369 A	12-12-1990
		JP 3503479 T	08-08-1991
		WO 9007003 A	28-06-1990
		AT 130633 T	15-12-1995
		AT 147787 T	15-02-1997
		CA 2064685 A,C	01-02-1991
		CA 2064754 A,C	01-02-1991
		DE 69023773 D	04-01-1996
		DE 69023773 T	24-10-1996
		DE 69029744 D	27-02-1997
		DE 69029744 T	10-07-1997
		DK 593757 T	07-07-1997
		EP 0485608 A	20-05-1992
		EP 0593757 A	27-04-1994
		JP 2891540 B	17-05-1999
		JP 5505095 T	05-08-1993
		WO 9102075 A	21-02-1991
		WO 9102076 A	21-02-1991
DE 4237113 A	05-05-1994	FR 2697525 A	06-05-1994
		GB 2272698 A,B	25-05-1994
		JP 7076596 A	20-03-1995
		US 5506121 A	09-04-1996

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/05378

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES IPK 7 C12M1/40 C12P21/02 B01J19/24 B01J19/00 C12Q1/68 C12N9/12 C12N15/10		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) IPK 7 C12M C12P B01J G01N C12Q C12N		
Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) PAJ, EPO-Internal, WPI Data		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	WO 97 04074 A (MARTIN L. WOLF & JOHN WILSON) 6. Februar 1997 (1997-02-06) Abbildung 3 Seite 14, Zeile 16 - Zeile 34 Seite 13, Zeile 8 - Zeile 21 Seite 11, Zeile 6 - Zeile 29 Seite 10, Zeile 16 - Zeile 25 Seite 9, Zeile 16 - Zeile 29 Seite 8, Zeile 28 - Seite 9, Zeile 2 Zusammenfassung --- -/--	1, 2, 6-14
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen		
<input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie		
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist "&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche 29. November 2000		Absenddatum des internationalen Recherchenberichts 07.12.2000
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter Stevnsborg, N

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie ^a	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	<p>KIM D M ET AL: "A semicontinuous prokaryotic coupled transcription/translation system using a dialysis membrane." BIOTECHNOLOGY PROGRESS., Bd. 12, Nr. 5, September 1996 (1996-09), Seiten 645-649, XP002106860 ISSN: 8756-7938 Zusammenfassung Abbildung 4 Seite 646, Spalte 1, Absatz 7 Seite 648, Spalte 1, Absatz 2</p>	1,2,6-14
Y	<p>PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 1998, no. 04, 31. März 1998 (1998-03-31) & JP 09 322755 A (RIKAGAKU KENKYUSHO & SAINIKUSU K.K.), 16. Dezember 1997 (1997-12-16) Zusammenfassung; Abbildungen & DATABASE WPI Section Ch, Week 199810 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B04, AN 1998-103992 & JP 09 322755 A (RIKAGAKU KENKYUSHO & SAINIKUSU K.K.), 16. Dezember 1997 (1997-12-16) Zusammenfassung</p>	1,2,6-14
X	<p>US 5 593 856 A (CHA-YONG CHOI ET AL.) 14. Januar 1997 (1997-01-14) Spalte 1, Absatz 1 Spalte 4, Zeile 22 - Zeile 58 Spalte 5, Zeile 14 - Zeile 36 Spalte 5, Zeile 61 - Zeile 64 Beispiel 2</p>	15
P,X	<p>WO 99 50436 A (ROCHE DIAGNOSTICS) 7. Oktober 1999 (1999-10-07) Seite 1, Absatz 1 Seite 26, letzter Absatz -Seite 27, Absatz 1 Seite 27, letzter Absatz</p>	15
A	<p>DE 37 23 004 A (BOEHRINGER INGELHEIM KG) 26. Januar 1989 (1989-01-26) das ganze Dokument</p>	1
A	<p>EP 0 894 852 A (BOEHRINGER MANNHEIM GMBH) 3. Februar 1999 (1999-02-03) Zusammenfassung Abbildung 1</p>	1

-/-

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US 4 642 220 A (RUNE BJÖRKMAN) 10. Februar 1987 (1987-02-10) Spalte 5, Zeile 28 - Zeile 65 Spalte 3, Zeile 65 - Zeile 67 Spalte 2, Zeile 51 - Zeile 67 Spalte 2, Zeile 10 - Zeile 17 Zusammenfassung	1-6,8
A	US 5 362 624 A (URBAN SCHMITT ET AL.) 8. November 1994 (1994-11-08) Spalte 2, Zeile 20 - Zeile 27 Spalte 1, Zeile 35 - Zeile 39 Zusammenfassung	3-5
A	US 5 478 730 A (JULY B. ALAKHOV ET AL.) 26. Dezember 1995 (1995-12-26) in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument	
A	DE 42 37 113 A (KLAUS KÜHN KONSTRUKTION GMBH) 5. Mai 1994 (1994-05-05) in der Anmeldung erwähnt	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/05378

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9704074 A	06-02-1997	US 5462874 A EP 0839182 A	31-10-1998 06-05-1998
JP 09322755 A	16-12-1997	KEINE	
US 5593856 A	14-01-1997	KR 131166 B JP 7298893 A	11-04-1998 14-11-1995
WO 9950436 A	07-10-1999	KEINE	
DE 3723004 A	26-01-1989	DE 8717464 U	29-12-1988
EP 0894852 A	03-02-1999	DE 19832160 A JP 11127889 A US 6107055 A	04-02-1999 18-05-1999 22-08-2000
US 4642220 A	10-02-1987	DE 3265181 D EP 0076300 A JP 58500538 T SE 8102316 A WO 8203690 A	12-09-1985 13-04-1983 07-04-1983 11-10-1982 28-10-1982
US 5362624 A	08-11-1994	DE 3901638 A US 5776702 A AT 109892 T AU 609301 B AU 3511089 A CA 1336759 A CN 1038168 A, B DD 283867 A DE 58908167 D DK 233589 A EP 0344578 A ES 2019257 T FI 892540 A HK 1001899 A IE 64286 B JP 2024559 A JP 2824516 B KR 9108704 B ZA 8903909 A AT 107030 T AU 633041 B AU 4858290 A CA 2008100 A DE 59005973 D DK 379216 T EP 0379216 A ES 2055172 T JP 2114263 C JP 2228561 A JP 8027284 B	07-12-1989 07-07-1998 15-08-1994 26-04-1991 30-11-1989 22-08-1995 20-12-1989 24-10-1990 15-09-1994 26-11-1989 06-12-1989 01-11-1994 26-11-1989 17-07-1998 26-07-1995 26-01-1990 11-11-1998 19-10-1991 28-02-1990 15-06-1994 21-01-1993 26-07-1990 20-07-1990 14-07-1994 31-10-1994 25-07-1990 16-08-1994 06-12-1996 11-09-1990 21-03-1996
US 5478730 A	26-12-1995	SU 1705302 A AT 123308 T CA 1318626 A CN 1043743 A DD 279270 A	15-01-1992 15-06-1995 01-06-1993 11-07-1990 30-05-1990

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 00/05378

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artik 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☐ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
2. ☐ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. ☐ Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

siehe Zusatzblatt

1. ☒ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
☒ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere (Gruppen von) Erfindungen enthält, nämlich:

1. Ansprüche: 1-14

Vorrichtung zur Durchführung biochemischer Reaktionen umfassend aus einem äusseren Gehäuse, einem inneren Gehäuse mit Vertiefungen und einer semipermeablen Membran, sowie Verfahren zur Durchführung biochemischer Reaktionen mittels der Vorrichtung.

2. Anspruch : 15

Kit bestehend aus einer Lösung, einer energiereichen Verbindung, einer tRNA-Fraktion, einer RNA-Polymerase und einem zellfreien Lysat.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/05378

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 5478730 A		DE 58909270 D	06-07-1995
		EP 0401369 A	12-12-1990
		JP 3503479 T	08-08-1991
		WO 9007003 A	28-06-1990
		AT 130633 T	15-12-1995
		AT 147787 T	15-02-1997
		CA 2064685 A,C	01-02-1991
		CA 2064754 A,C	01-02-1991
		DE 69023773 D	04-01-1996
		DE 69023773 T	24-10-1996
		DE 69029744 D	27-02-1997
		DE 69029744 T	10-07-1997
		DK 593757 T	07-07-1997
		EP 0485608 A	20-05-1992
		EP 0593757 A	27-04-1994
		JP 2891540 B	17-05-1999
		JP 5505095 T	05-08-1993
		WO 9102075 A	21-02-1991
		WO 9102076 A	21-02-1991
DE 4237113 A	05-05-1994	FR 2697525 A	06-05-1994
		GB 2272698 A,B	25-05-1994
		JP 7076596 A	20-03-1995
		US 5506121 A	09-04-1996

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

REC'D 22 JAN 2001

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 33 049 M/Mq		FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP00/06378	International filing date (day/month/year) 05/07/2000	Priority date (day/month/year) 05/07/1999	RECEIVED MAR 04 2002 TC 1700
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC B65H29/58			
Applicant ATECS MANNESMANN AG et al			

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of 5 sheets, including this cover sheet.

☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e. sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of sheets.


RECEIVED

JAN 07 2002

TC 1700

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☒ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 27/11/2000	Date of completion of this report 18.01.2001
Name and mailing address of the international preliminary examining authority:  European Patent Office D-80298 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Authorized officer Fachin, F Telephone No. +49 89 2399 2057



THIS PAGE BLANK (USPTO)

RECEIVED

1997

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**

International application No. PCT/EP00/06378

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of *(substitute sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments (Rules 70.16 and 70.17).):*

Description, pages:

1-5 as originally filed

Claims, No.:

1-3 as originally filed

Drawings, sheets:

1/2,2/2 as originally filed

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language: , which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of the international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages:
- ☐ the claims, Nos.:

THIS PAGE BLANK (USPTO)

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**

International application No. PCT/EP00/06378

☐ the drawings, sheets:

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed (Rule 70.2(c)):

(Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.)

6. Additional observations, if necessary:

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims 1-3
	No: Claims
Inventive step (IS)	Yes: Claims 1-3
	No: Claims
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims 1-3
	No: Claims

2. Citations and explanations
see separate sheet

VII. Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:
see separate sheet

THIS PAGE BLANK (USPTO)

SECTION V : CITATIONS AND EXPLANATIONS

1. The invention relates to a device for conveying flat objects and allowing some of these objects to be diverted from their conveying path without disrupting the main stream of flat objects.

The posed problem is solved by providing a device with two pivotable flaps and two motorized endless belts moving **between** the two flaps wherein one of the endless belts extends beyond the diverting (stationary) post as far as the exit of the (main) conveying path.

2. Since every one of the documents cited in the search report fails in disclosing **at least** two pivotable **flaps** with two endless belts mounted **between** the flaps, independent claim 1 as well as its dependent claims are considered to fulfil the criterion set forth in Article 33(2) PCT (novelty).

3. Furthermore the invention, as disclosed in independent claim 1 and in its dependent claims, is considered not to be obvious to a person skilled in the art.

Document US 5,150,894 (D1), which is considered to represent the closest prior art, describes a similar apparatus wherein, instead of flaps, pairs of pivotable guide arms with idler rollers are used and wherein such diverting means are not mounted so that endless belts are moving between them.

Document D1 is not addressed to solve the specific problem of the present application, that is to feed the flat objects so that the belts accompany them all the way to the exit without a breaking in the conveying which could lead to variations in spacing.

Moreover D1 does not contain hints for the solution of the present application because, at the diverting station, the guiding members with their idler rollers do not assure **a continuous conveyance** as the arrangement flaps/belts disclosed in claim 1 of the present application.

The other documents cited in the search report define simply the general state of the art and, as such, are not considered to be of particular relevance.

Consequently independent claim 1 and its dependent claims are considered to fulfil the criterion set forth in Article 33(3) PCT (inventive step).

THIS PAGE BLANK (USPTO)

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT - SEPARATE SHEET**

International application No. PCT/EP00/06378

4. Finally, since it appears that the claimed invention can be made or used in a technological sense in industry, it is considered to show industrial applicability within the meaning of Article 33(4) PCT.

SECTION VII: DEFECTS IN THE INTERNATIONAL APPLICATION

5. The requirements of Rule 5.1(a)(ii) PCT are not met because document D1 is not identified in the description and the relevant background art disclosed therein is not briefly discussed.
6. The requirements of Rule 6.3(b) PCT are not met because claim 1 is not draft in the two-part form, whereby the features known in combination from D1 are placed in the preamble.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 5208/OA/WO-Koe	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 00/05378	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 10/06/2000	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 18/06/1999
Anmelder ROCHE DIAGNOSTICS GMBH		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 6 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

- a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

☐ Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

- b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.

☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☐ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☒ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der **Bezeichnung der Erfindung**

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der **Zusammenfassung**

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. _____

☐ wie vom Anmelder vorgeschlagen

☐ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

☒ keine der Abb.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☐ Ansprüche Nr. _____
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich _____
2. ☐ Ansprüche Nr. _____
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich _____
3. ☐ Ansprüche Nr. _____
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

siehe Zusatzblatt

1. ☒ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr. _____
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt: _____

Bemerkungen hinsichtlich des Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☒ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere (Gruppen von) Erfindungen enthält, nämlich:

1. Ansprüche: 1-14

Vorrichtung zur Durchführung biochemischer Reaktionen umfassend aus einem äusseren Gehäuse, einem inneren Gehäuse mit Vertiefungen und einer semipermeablen Membran, sowie Verfahren zur Durchführung biochemischer Reaktionen mittels der Vorrichtung.

2. Anspruch : 15

Kit bestehend aus einer Lösung, einer energiereichen Verbindung, einer tRNA-Fraktion, einer RNA-Polymerase und einem zellfreien Lysat.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/05378

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C12M1/40 C12P21/02 B01J19/24 B01J19/00 C12Q1/68
C12N9/12 C12N15/10

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C12M C12P B01J G01N C12Q C12N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

PAJ, EPO-Internal, WPI Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie ^o	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	<p>WO 97 04074 A (MARTIN L. WOLF & JOHN WILSON) 6. Februar 1997 (1997-02-06)</p> <p>Abbildung 3</p> <p>Seite 14, Zeile 16 - Zeile 34</p> <p>Seite 13, Zeile 8 - Zeile 21</p> <p>Seite 11, Zeile 6 - Zeile 29</p> <p>Seite 10, Zeile 16 - Zeile 25</p> <p>Seite 9, Zeile 16 - Zeile 29</p> <p>Seite 8, Zeile 28 -Seite 9, Zeile 2</p> <p>Zusammenfassung</p> <p style="text-align: center;">--- -/--</p>	1,2,6-14



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

^o Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

& Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

29. November 2000

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

07.12.2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2

NL - 2280 HV Rijswijk

Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,

Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Stevnsborg, N

THIS PAGE BLANK (USPTO)

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	KIM D M ET AL: "A semicontinuous prokaryotic coupled transcription/translation system using a dialysis membrane." BIOTECHNOLOGY PROGRESS., Bd. 12, Nr. 5, September 1996 (1996-09), Seiten 645-649, XP002106860 ISSN: 8756-7938 Zusammenfassung Abbildung 4 Seite 646, Spalte 1, Absatz 7 Seite 648, Spalte 1, Absatz 2 ---	1,2,6-14
Y	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 1998, no. 04, 31. März 1998 (1998-03-31) & JP 09 322755 A (RIKAGAKU KENKYUSHO & SAINIKUSU K.K.), 16. Dezember 1997 (1997-12-16) Zusammenfassung; Abbildungen & DATABASE WPI Section Ch, Week 199810 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B04, AN 1998-103992 & JP 09 322755 A (RIKAGAKU KENKYUSHO & SAINIKUSU K.K.), 16. Dezember 1997 (1997-12-16) Zusammenfassung ---	1,2,6-14
X	US 5 593 856 A (CHA-YONG CHOI ET AL.) 14. Januar 1997 (1997-01-14) Spalte 1, Absatz 1 Spalte 4, Zeile 22 - Zeile 58 Spalte 5, Zeile 14 - Zeile 36 Spalte 5, Zeile 61 - Zeile 64 Beispiel 2 ---	15
P,X	WO 99 50436 A (ROCHE DIAGNOSTICS) 7. Oktober 1999 (1999-10-07) Seite 1, Absatz 1 Seite 26, letzter Absatz -Seite 27, Absatz 1 Seite 27, letzter Absatz ---	15
A	DE 37 23 004 A (BOEHRINGER INGELHEIM KG) 26. Januar 1989 (1989-01-26) das ganze Dokument ---	1
A	EP 0 894 852 A (BOEHRINGER MANNHEIM GMBH) 3. Februar 1999 (1999-02-03) Zusammenfassung Abbildung 1 ---	1
	---	-/--

THIS PAGE BLANK (USPTO)

*C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US 4 642 220 A (RUNE BJÖRKMAN) 10. Februar 1987 (1987-02-10) Spalte 5, Zeile 28 - Zeile 65 Spalte 3, Zeile 65 - Zeile 67 Spalte 2, Zeile 51 - Zeile 67 Spalte 2, Zeile 10 - Zeile 17 Zusammenfassung ----	1-6,8
A	US 5 362 624 A (URBAN SCHMITT ET AL.) 8. November 1994 (1994-11-08) Spalte 2, Zeile 20 - Zeile 27 Spalte 1, Zeile 35 - Zeile 39 Zusammenfassung ----	3-5
A	US 5 478 730 A (JULY B. ALAKHOV ET AL.) 26. Dezember 1995 (1995-12-26) in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument ----	
A	DE 42 37 113 A (KLAUS KÜHN KONSTRUKTION GMBH) 5. Mai 1994 (1994-05-05) in der Anmeldung erwähnt -----	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/JP 00/05378

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 9704074	A	06-02-1997	US	5462874 A	31-10-1995
			EP	0839182 A	06-05-1998
JP 09322755	A	16-12-1997	KEINE		
US 5593856	A	14-01-1997	KR	131166 B	11-04-1998
			JP	7298893 A	14-11-1995
WO 9950436	A	07-10-1999	KEINE		
DE 3723004	A	26-01-1989	DE	8717464 U	29-12-1988
EP 0894852	A	03-02-1999	DE	19832160 A	04-02-1999
			JP	11127889 A	18-05-1999
			US	6107055 A	22-08-2000
US 4642220	A	10-02-1987	DE	3265181 D	12-09-1985
			EP	0076300 A	13-04-1983
			JP	58500538 T	07-04-1983
			SE	8102316 A	11-10-1982
			WO	8203690 A	28-10-1982
US 5362624	A	08-11-1994	DE	3901638 A	07-12-1989
			US	5776702 A	07-07-1998
			AT	109892 T	15-08-1994
			AU	609301 B	26-04-1991
			AU	3511089 A	30-11-1989
			CA	1336759 A	22-08-1995
			CN	1038168 A, B	20-12-1989
			DD	283867 A	24-10-1990
			DE	58908167 D	15-09-1994
			DK	233589 A	26-11-1989
			EP	0344578 A	06-12-1989
			ES	2019257 T	01-11-1994
			FI	892540 A	26-11-1989
			HK	1001899 A	17-07-1998
			IE	64286 B	26-07-1995
			JP	2024559 A	26-01-1990
			JP	2824516 B	11-11-1998
			KR	9108704 B	19-10-1991
			ZA	8903909 A	28-02-1990
			AT	107030 T	15-06-1994
			AU	633041 B	21-01-1993
			AU	4858290 A	26-07-1990
			CA	2008100 A	20-07-1990
			DE	59005973 D	14-07-1994
			DK	379216 T	31-10-1994
			EP	0379216 A	25-07-1990
			ES	2055172 T	16-08-1994
			JP	2114263 C	06-12-1996
			JP	2228561 A	11-09-1990
			JP	8027284 B	21-03-1996
US 5478730	A	26-12-1995	SU	1705302 A	15-01-1992
			AT	123308 T	15-06-1995
			CA	1318626 A	01-06-1993
			CN	1043743 A	11-07-1990
			DD	279270 A	30-05-1990

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

P 00/05378

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 5478730 A		DE 58909270 D	06-07-1995
		EP 0401369 A	12-12-1990
		JP 3503479 T	08-08-1991
		WO 9007003 A	28-06-1990
		AT 130633 T	15-12-1995
		AT 147787 T	15-02-1997
		CA 2064685 A,C	01-02-1991
		CA 2064754 A,C	01-02-1991
		DE 69023773 D	04-01-1996
		DE 69023773 T	24-10-1996
		DE 69029744 D	27-02-1997
		DE 69029744 T	10-07-1997
		DK 593757 T	07-07-1997
		EP 0485608 A	20-05-1992
		EP 0593757 A	27-04-1994
		JP 2891540 B	17-05-1999
		JP 5505095 T	05-08-1993
		WO 9102075 A	21-02-1991
		WO 9102076 A	21-02-1991
DE 4237113 A	05-05-1994	FR 2697525 A	06-05-1994
		GB 2272698 A,B	25-05-1994
		JP 7076596 A	20-03-1995
		US 5506121 A	09-04-1996

THIS PAGE BLANK (USPTO)